

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра биохимии**

СТАНКЕВИЧ
Ян Владимирович

**ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ
СИСТЕМЫ ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО (*Lupinus angustifolius* L.)**
Дипломная работа

Научный руководитель:
доктор химических наук,
заведующий НИЛ физиологии
В.А. Костюк

Допущен к защите

«___» _____ 2020 г.
Зав. кафедрой биохимии
Кандидат биологических наук,
_____ И.В. Семак

Минск, 2020

РЕФЕРАТ

Дипломная работа, 38 страниц, 3 рисунка, 1 таблица, 21 источник литературы.

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО (*Lupinus angustifolius* L.)

Объект исследования: лабораторные растения Люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.).

Цель работы: изучение влияния регуляторов роста на активность ферментов антиоксидантной системы в растениях люпина узколистного на разных этапах клонального микроразмножения. А также изучение активности липоксигеназы, выделенной из семян *Lupinus angustifolius*, и ее взаимодействия с нативными полифенолами люпина. Исследуемый фермент активен при pH 7,5, вызывая перекисное окисление линолевой кислоты. Основным гидропероксидом, продуцируемым в присутствии исследуемой липоксигеназы люпина, была 1,3-гидропероксиоктадекадиеновая кислота. В присутствии фенольных соединений, экстрагированных из семян *L. angustifolius*, наблюдались изменения активности липоксигеназы. Отчетливый антиоксидантный эффект полифенолов люпина, наблюдаемый при их низкой концентрации (0,58 мкг/мл), был почти полностью преодолен при более высокой концентрации фенольных соединений (2,91 мкг/мл). Это происходит, вероятно, от окисления полифенолов в присутствии липоксигеназы люпина. В этом механизме возможно образование радикалов полифенолов. Образующиеся радикалы снижают антиоксидантную эффективность фенольных соединений. Возможное пероксидирование, обусловленное феноксильным радикалом, может быть ингибировано присутствием антиоксидантов, способных регенерировать флавоноиды.

Методы теоретической биохимии и биотехнологии.

В процессе клонального микроразмножения часто происходит формирование растений с нарушенной морфологией, анатомией и физиологией. Одной из причин подобных изменений является окислительный стресс, происходящий при нарушении равновесия между образованием активных форм кислорода в клетках и их разрушением под действием антиоксидантной системы. Поэтому исследование взаимосвязи активности ферментов антиоксидантной системы с морфогенезом растений и условиями их культивирования *in vitro* является актуальной задачей.

Показано, что исследования в этой области важны в наше время, основной задачей которых является поиск замены животному белку на растительный аналог для людей с непереносимостью такового.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа, 38 старонак, 3 малюнкi, 1 табліца, 21 крыніцаінфармацыілітаруры.

ДАСЛЕДВАННЕ АКТЫЎНАСЦІ ФЕРМЕНТАЎ АНЦІАКСІДАНТНАЙ СІСТЭМЫ ЛЮПІНА ВУЗКАЛІСНАГА (*Lupinus angustifolius* L.)

Аб'ект даследавання: лабараторныя расліны Люпіна вузкаліснага (*Lupinus angustifolius* L.).

Мэта работы: вывучэнне ўплыву рэгулятараў росту на актыўнасць ферментаў антыаксідантнай сістэмы ў раслінах люпіна, вузколіснага на розных этапах кланальнага мікраразмножэння. А таксама вывучэнне актыўнасці ліпаксігеназы, выдзеленай з сям'ян *Lupinus angustifolius*, і яе ўзаемадзеяння з натыйнымі поліфеналамі люпіна. Вылучаецца фермент, які дзейнічае пры pH 7,5, выклікае перакіснае акісленне лінолевай кіслаты. Асноўным гідрапераксідам, які прадуцыруецца у прысутнасці даследаванай ліпаксігеназы люпіна, была 1,3-гідрапераксіоктадэкадзіенавая кіслота. У прысутнасці фенольных злучэнняў, якія былі экстрагіраваны з насення *L. angustifolius*, назіралі за актыўнай дзейнасцю ліпаксігеназы. Адкрыты антыаксідантны эффект поліфеналаў люпіна, які назіраецца пры іх нізкай канцэнтрацыі (0,58 мкг / мл), быў практычна поўна адсутнічаў пры больш высокай канцэнтрацыі фенольных злучэнняў (2,91 мкг / мл). Гэта адбываецца, напэўна, ад акіслення поліфеналаў у прысутнасці ліпаксігеназы люпіна. У гэтым механізме магчыма ўтварэнне радыкалаў поліфеналаў. Апрацаваныя радыкалы зніжаюць антыаксідантную эфектыўнасць фенольных злучэнняў. Магчымае пераксідзіраванне, якое абумоўлена феноксільным радыкалам, можа мець месца ў інгібіраванні пры абавязковай прысутнасці антыаксідантаў, здольных да рэгенерацыі флавоноідаў.

Метады тэарэтычнай біяхіміі і біятэхналогіі, якія вельмі цесна пераклікаюцца.

У працэсе кланальнага мікраразмнажэння часта адбываецца фарміраванне раслін з парушанай марфалогіяй, анатоміяй і фізіялогіяй. Адною з прычын падобных змен з'яўляецца акісляльны стрэс, які адбываецца пры парушэнні раўнавагі паміж утварэннем актыўных формаў кіслароду ў клетках і іх разбурэннем пад дзеяннем анціаксідантнай сістэмы. Таму даследаванне вельмі ўзаемазвязана паміж актыўнасцю ферментаў анціаксідантнай сістэмы з морфагенэзам раслін і ўмовамі іх культывавання *in vitro* з'яўляецца актуальнай задачай.

Паказана, што даследаванні ў гэтай галіне важныя ў наш час, асноўнай задачай якіх з'яўляецца пошук замены жывёльных бялкоў на раслінны аналаг для людзей з непераноснасцю гэтага.

RESUME

Thesis, 38 pages, 3 figures, 1 table, 21 sources of literature.

STUDY OF THE ACTIVITY OF ENZYME SYSTEMS ANTIOXIDANT SYSTEM LUPINUS LUPINUS (*Lupinus angustifolius* L.)

Object of study: laboratory plants of *Lupinus angustifolius* (*Lupinus angustifolius* L.).

The aim of this study was to investigate the activity of lipoxygenase extracted from *Lupinus angustifolius* seeds and its interactions with native lupin polyphenols. The examined enzyme is active at pH 7.5 causing peroxidation of linoleic acid. The main hydroperoxide produced in the presence of investigated lupin lipoxygenase was 13-hydroperoxy-octadecadienoic acid (13-HPODE t-t). In the presence of the phenolic compounds extracted from *L. angustifolius* seeds, the changes of lipoxygenase activity were observed. A distinct antioxidant effect of lupin polyphenols observed at their low concentration (0.58 µg/ml) was almost completely overcome at higher concentration of phenolic compounds (2.91 µg/ml). It comes probably from oxidation of polyphenols in the presence of lupin lipoxygenase. In this mechanism, polyphenol radical formation is possible. The formed radicals decrease the antioxidant efficiency of the phenolic compounds. Eventual phenoxyl radical-mediated peroxidation may be inhibited by the presence of antioxidants able to regenerate flavonoids.

Methods of theoretical biochemistry and biotechnology.

In the process of clonal micro-propagation, plants with disturbed morphology, anatomy, and physiology are often formed. One of the reasons for such changes is oxidative stress, which occurs when the balance between the formation of reactive oxygen species in cells and their destruction under the action of the antioxidant system is disturbed. Therefore, the study of the relationship between the activity of antioxidant system enzymes and plant morphogenesis and conditions of their cultivation in vitro is an urgent task.

It is shown that research in this area is important in our time, the main task of which is to find a replacement for animal protein with a plant analog for people with intolerance to it.